

Docteur Paule DESOILLE-MERLHES

Ancienne Externe des Hôpitaux de Paris



**MODIFICATIONS DE QUELQUES
ÉLÉMENTS MINÉRAUX DU LAIT
sous l'influence de la chaleur**

**PARIS
LIBRAIRIE LE FRANÇOIS
91, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 91**

1929

Docteur Paule DESOILLE-MERLHES

Ancienne Externe des Hôpitaux de Paris



MODIFICATIONS DE QUELQUES ÉLÉMENTS MINÉRAUX DU LAIT sous l'influence de la chaleur

PARIS
LIBRAIRIE LE FRANÇOIS
91, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 91

—
1929



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153528_0118

A LA MEMOIRE DE MON PERE

MEIS ET AMICIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR MARCEL LABBÉ

PROFESSEUR DE CLINIQUE MÉDICALE;
MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE;
OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR.

*qui me fit l'honneur d'accepter d'être mon
président de thèse.*

A MONSIEUR LE DOCTEUR NEPVEUX

CHEF DE LABORATOIRE DE PATHOLOGIE GÉNÉRALE
A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS.

*en témoignage de ma vive reconnaissance
pour les conseils qu'il m'a donnés au
cours de ce travail.*

A MON MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR L. LAPICQUE
PROFESSEUR DE PHYSIOLOGIE GÉNÉRALE A LA SORBONNE;
MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE;
OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR.

*qui, pendant les années passées dans son
laboratoire, a su me montrer la nécessité
d'appliquer les méthodes de la chimie
physique dans l'étude de la physiologie.*

A MONSIEUR LE DOCTEUR TOULOUSE
MÉDECIN-DIRECTEUR DE L'HÔPITAL HENRI-ROUSSELLE ;
DIRECTEUR DE LABORATOIRE
A L'ÉCOLE DES HAUTES-ÉTUDES ;

*pour le bienveillant accueil qu'il m'a réservé
dans ses services.*

A MON BEAU-FRÈRE MAURICE DELAVILLE
DIRECTEUR DE LABORATOIRE A L'ÉCOLE
DES HAUTES-ÉTUDES ET A L'HÔPITAL HENRI-ROUSSELLE ;

*qui m'a inspiré ce travail et m'a constam-
ment guidé et aidé dans la pratique de la
science difficile qu'est la chimie biolo-
gique. Qu'il trouve ici l'assurance de ma
profonde reconnaissance.*

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX :

Stage : MM. LES DOCTEURS LAFFITTE.... 1918-1919;

SIREDEY 1919;

MICHON 1920.

M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ RIBIERRE.... 1920.

(*in memoriam*).

Externat : MM. LES DOCTEURS RICHE.... 1921;

FAROY 1922;

SORREL 1922;

GUILLEMOT. 1923;

BARBIER ... 1923.

MM. LES PROFESSEURS JEANNIN; LœPER.

MM. LES DOCTEURS BENS AUDE; STEVENIN, Médecins des Hôpitaux ; CADENAT, Chirurgien des Hôpitaux ; R. GIROUX ; DE NABIAS ; MIN-VIELLE ; PAREUX ; PHILIPPEAU ; WEIL-SPIRE; XOUDIS.

A MES MAITRES DANS LES LABORATOIRES :

MM. LES PROFESSEURS BRANCA; LAUGIER; POTTEVIN (*in memoriam*); PORTIER.

MM. LES PROFESSEURS AGRÉGÉS MESTREZAT (*in memoriam*); MULON; VERNE.

INTRODUCTION

Parmi les nombreux problèmes sociaux qui se posent actuellement, celui de la protection de la première enfance est un des plus graves.

C'est pendant la première année de l'existence que la mortalité est de beaucoup la plus grande. Aussi a-t-on employé tous les moyens pour la combattre. A l'école, par voie d'affiches, dans les dispensaires, etc... des notions primordiales d'hygiène générale et alimentaire sont inculquées aux jeunes mères et à toutes les personnes auxquelles sont confiés les nourrissons.

Tout serait simplifié si l'enfant était toujours allaité par sa mère, le lait maternel étant celui qui lui convient le mieux. Malheureusement, pour de nombreuses raisons réelles ou invoquées : travail de la mère, contagiosité de celle-ci, insuffisance ou absence du lait maternel, le nourrisson est le plus souvent privé de cet aliment naturel. On tente alors d'y suppléer en confiant l'enfant à une nourrice. Mais, malgré une surveillance médicale, cela est bien aléatoire et surtout la plupart du temps trop coûteux. Tout

naturellement c'est le lait de vache qui est employé; le lait de chèvre ou d'ânesse étant, en raison de leur rareté, conservé pour les cas pathologiques. Le lait de vache que l'on se procure si aisément et dont le prix est relativement faible est, pour les cités urbaines, de provenance variée et lointaine. A la traite, comme pendant le transport, il est soumis à toutes sortes de contacts et il est loin d'être pur de tout germe. Le lait trait et recueilli stérilement est rare et constitue encore un aliment de luxe.

Des moyens, simples et pratiques, de stérilisation du lait sont maintenant à la portée de tous, sans en exclure le plus ancien qui est l'ébullition. De plus, les progrès accomplis par l'industrie laitière permettent d'avoir en tous pays et sous tout climat des laits provenant d'endroits réputés par leurs riches pâturages et leurs belles races laitières, et portant toutes les garanties de propreté et de stérilité voulues.

Les moyens employés tant pour la stérilisation ménagère qu'industrielle (laits pasteurisés, condensés, concentrés et en poudre) se réduisent à un seul : la chaleur.

Malgré tous les soins apportés à ces préparations, l'alimentation ainsi composée ne donne pas toujours des résultats identiques à ceux obtenus par l'allaitement maternel. Des troubles digestifs et des troubles de croissance, maintenant bien connus, se produisent, beaucoup plus souvent avec l'alimentation stérile qu'avec le lait cru.

Le plus important et le plus fréquent de tous ces troubles est le rachitisme.

Ces dernières années de nombreux travaux ont été publiés sur l'étude du rachitisme et plus particulièrement sur celle du rachitisme expérimental. Ils ont suffisamment établi les causes les plus probables de cette affection.

Dans les cas où une alimentation lactée est à incriminer les causes paraissent en être :

1° un changement apporté par le chauffage dans l'équilibre salin du lait;

2° une destruction de vitamine. En l'occurrence la vitamine anti-rachitique dite vitamine D.

Une seule de ces causes retiendra ici notre attention : l'équilibre salin du lait.

Nous étudierons les troubles apportés à cet équilibre par la chaleur et nous tenterons de les rapprocher des constatations biologiques et pathologiques faites jusqu'à présent.

HISTORIQUE

Nombreux sont les travaux qui établissent la composition du lait, et étudient ses différents éléments en qualité et en quantité. Nous n'envisagerons que ceux qui intéressent directement nos recherches. Ils ont trait aux sels de calcium, aux phosphates et aux protéines du lait ainsi qu'à la transformation que leur fait subir la chaleur.

PHYSICO-CHIMIE

Tout d'abord VAN SLYKE et BOSWORTH en 1914 (62) et plus tard GYORKY en 1923 (22) montrent que le calcium se trouve dans le lait sous deux formes : l'une à l'état de sels solubles partiellement ionisés, l'autre liée à la caséine. Il en est de même pour les phosphates, la partie indyalisable du phosphore total étant de 50 à 60 % pour le lait de vache et de 30 à 40 % pour le lait de femme.

En 1924 WA CHIENCHI (68) reprenant les mêmes travaux trouve que dans le lait 65 % du calcium et 64,1 % du phosphore sont à l'état colloïdal ou non diffusible.

Plus intéressantes pour nous, sont les recherches faites sur les laits chauffés. Les travaux qui les exposent tentent d'établir quelles sont exactement les modifications apportées par le chauffage à l'équilibre des composés colloïdaux et des sels solubles contenus dans le lait.

En 1890 SYDNEY RINGER (53) met en évidence que l'addition de sels solubles de calcium au lait chauffé lui restitue ses pouvoirs de coagulabilité ; il a été généralement admis depuis, que de tous les constituants du lait, les sels de calcium sont les plus affectés par la chaleur.

Plus tard, en 1913, étudiant le lait pasteurisé, c'est-à-dire chauffé à de faibles températures, C. RUPP (54) montre qu'au-dessous de 65° C aucune albumine n'est coagulée et qu'il faut atteindre la température de 70° C pour commencer à observer une coagulation des caséines. Cet auteur étudie parallèlement et aux mêmes températures les modifications apportées par le chauffage à la teneur en sels solubles de chaux et de phosphore. Les résultats qu'il obtient lui donnent un léger abaissement du taux pour les sels de chaux solubles, abaissement qui se trouve dans la limite des erreurs d'expérience ; les sels de phosphores paraissent ne subir aucun changement. Mais une grosse critique est à faire quant à la méthode employée :

Le temps de filtration qui s'échelonne sur plusieurs jours, voire deux semaines, permet au lait de s'acidifier notablement. Or, nous verrons plus loin, au cours de nos expériences, que lorsque le lait est complète-

ment aigri, tout le calcium est ultrafiltrable. Aussi lorsque l'auteur attend le second jour de filtrage pour avoir une teneur constante en sel, qu'il s'agisse de lait cru ou chauffé, il est évident que le lait acidifié donne, pour l'un comme pour l'autre, des teneurs identiques en sels dialysables.

La même année GROSSER (19) étudie non pas le lait pasteurisé mais le lait bouilli. Il fait subir au lait de vache 15 minutes d'ébullition et dose après ultrafiltration par la méthode de Bechhold les sels solubles de calcium, de phosphore, et l'azote. Pour les premiers il observe une diminution de 5,4 % sur le lait cru; le phosphore et l'azote sont seulement légèrement diminués. Pour le lait humain traité dans les mêmes conditions, l'abaissement est de 21 % pour le calcium, 7 % pour le phosphore et de 12 % pour l'azote. Ces chiffres étant rapportés aux éléments totaux respectifs.

Citons maintenant, et seulement pour mémoire, les travaux de JOHN GOLDING, SCHRYVER et GOWLAND, que malgré toutes nos recherches, nous n'avons pu nous procurer. Ils traitent des changements chimiques du lait chauffé à diverses températures, et des effets de la pasteurisation sur sa composition chimique.

Les résultats obtenus par BELL en 1924 (3) ne peuvent être comparés à ceux de Grosser, la durée et le degré de chauffage n'étant pas les mêmes dans les deux cas. C'est, du reste, la raison des différences obtenues par tous les expérimentateurs.

Plus intéressants encore sont les travaux de

MAGGEE et HARVEY (41) en vue de déterminer quelles sont les modifications ou les altérations que le chauffage peut amener dans l'état physico-chimique de quelques-uns des constituants du lait. Les sels de calcium ont plus particulièrement retenu leur attention.

Tous les dosages sont faits après précipitation des protéines par l'hydrate de fer colloïdal. Cette précaution nous paraît du reste inutile et peut-être une cause d'erreur, les auteurs n'ayant pas montré si le coagulum n'entraîne pas une partie des sels de calcium par absorption.

Dans le lait cru 85 % de la chaux totale est sous forme de sels solubles, et 71 % lorsque le lait a été chauffé à 65° C. pendant 15 minutes. Environ 26 % du calcium total est sous forme diffusible dans le lait cru, 20 % dans le lait pasteurisé, c'est-à-dire chauffé à 70° pendant 30 minutes, et 15 % dans le lait bouilli pendant une heure.

Au cours de leurs expériences les auteurs sont amenés à admettre que le changement de p H du lait après chauffage est une conséquence de la séparation du phosphate tricalcique $\text{CO}_3(\text{PO}_4)_2$ en précipité. Il apparaît alors que la diminution de calcium soluble est due à sa transformation partielle en corps colloïdale.

Comparant leurs résultats tant pour le calcium que pour le phosphore avec ceux de Grosser et de Bell, Maggee et Harvey concluent que vraisemblablement la chaleur transforme une partie des sels solubles de

phosphate monocalcique soluble Ca H PO_4 du lait en phosphate tricalcique $\text{Ca}^3(\text{PO}_4)^2$ de forme colloïdale.

Ils rappellent qu'il a été démontré que l'addition de sels neutres à des composés protéiques diminue la viscosité et le gonflement des particules colloïdales; et que l'ion du sel donnant une charge de signe contraire aux ions protéiques en est responsable. Par conséquent le fait qu'il y a moins de calcium soluble dans le lait doit accroître sa viscosité et augmenter la taille de ses particules colloïdales. La viscosité du lait peut aussi être augmentée par la diminution des propriétés lyophiliques des colloïdes.

L'équilibre des colloïdes est tel que leur volume augmente tandis que leur stabilité diminue. Ceci s'applique bien au lait bouilli, mais non au lait pasteurisé. Car la viscosité en est légèrement diminuée cependant que le volume relatif de la caséine est à peine affecté par la pasteurisation. Ces contradictions indiquant pour les auteurs, la nécessité d'une étude plus approfondie des effets de la durée et du degré de chauffage sur le lait.

Plus récemment M. A. PELLET a publié une revue générale sur le lait (51) qui nous a fourni de très intéressants documents.

L'action de la chaleur sur le lait provoque un départ de gaz carbonique; le dégagement est complet lorsque l'opération se fait à l'air libre. Ce départ facilite la précipitation des sels de chaux et des phosphates du lait. Le bicarbonate de chaux est plus soluble que le carbonate qui se forme avec le départ

du gaz carbonique. Le citrate tribasique amorphe est transformé en citrate cristallisé dont la solubilité est moindre. L'auteur rappelle que, d'après les travaux de Scurfield, les hautes températures détruiraient plus rapidement les combinaisons citriques que les combinaisons phosphatées.

Rappelons enfin qu'une partie du calcium est combiné avec les protéines sous forme de caséinate de chaux. Il existe une sorte d'équilibre entre les taux de caséine et de caséinate dans le lait.

ESSAIS PHYSIOLOGIQUES des LAITS CHAUFFÉS

Passons maintenant en revue les travaux relatant les essais physiologiques faits avec des laits chauffés.

En 1902 E. M. GILL (58) accuse le lait pasteurisé et le lait bouilli d'être la cause du rachitisme et de certaines déformations osseuses.

Des lésions rachitiques ayant été constatées chez des enfants nourris au sein, V. MEYSENBOURG en 1922 (47), étudie les composés inorganiques du phosphore dans le lait maternel.

TEFFER et CHICHTON (65), en nourrissant de jeunes chevreaux avec du lait de chèvre à faible teneur en calcium et en phosphore, observent des troubles profonds de la croissance et de l'état général.

USUELLI, en 1926 (66), établit pour ses rats un régime comportant du lait stérilisé. Ce lait a été passé à l'autoclave à 134° pendant deux heures. Il constate un ralentissement de l'augmentation de poids sans le

moindre symptôme d'avitaminose. Dans une autre série d'expériences il stérilise son lait à la même température que précédemment *mais en milieu alcalin*. Les troubles obtenus sont nettement d'origine toxique. Rien d'étonnant à cela, cette intoxication est due à la désintégration de la molécule protéique provoquée par le chauffage en milieu alcalin. Se basant sur cette dernière influence Usuelli rappelle que le rachitisme est presque déterminé ou provoqué par une intoxication qu'il met sur le compte des produits de désintégration des albuminoïdes. Mais pourquoi Usuelli a-t-il chauffé le lait en milieu alcalin? Normalement le lait n'est jamais alcalin. On s'explique mal l'idée de l'auteur, car il était facile de prévoir qu'un chauffage prolongé, sous pression et en milieu alcalin, devait fatalement scinder la molécule protéique en éléments toxiques.

Nous retrouvons maintenant la partie biologique des travaux de MAGGEE et HARVEY (42) qui, expérimentant sur de jeunes porcs, les alimentent les uns avec du lait cru, les autres avec du lait chauffé. Mais une alimentation uniquement composée de lait frais ou aigri ne pouvant pas assurer aux porcs une croissance normale, les auteurs y adjoignent des céréales et des sels de chaux. Le régime étant ainsi établi, les auteurs étudient simultanément avec le lait cru frais ou aigre, et avec le lait chauffé, le métabolisme du phosphore, du calcium et de l'azote. La rétention de calcium, de phosphore et d'azote est plus faible avec un régime comprenant du lait chauffé qu'avec un

régime comprenant du lait cru. L'addition d'une nouvelle dose de sel de calcium à un régime contenant du lait chauffé favorise la rétention du calcium, du phosphore et de l'azote; le supplément de sel de chaux ayant provoqué une rétention de calcium deux fois plus forte que la quantité ajoutée. Les auteurs diminuent alors le calcium soluble du régime, et constatent parallèlement l'augmentation du phosphore et de l'azote urinaire.

En présence de ces résultats les auteurs émettent l'hypothèse que la chaleur diminue la valeur nutritive du lait en réduisant la quantité de calcium soluble.

Plus récemment, en 1927, A. C. VILLART et K. BLUNT (67) comparent la teneur relative en calcium, phosphore et azote du lait concentré et du lait pasteurisé en étudiant leur métabolisme chez des sujets jeunes ou adultes. Le régime est soigneusement dosé et comprend l'un ou l'autre de ces laits. Toutes les éliminations sont dosées afin d'établir la rétention du phosphore, du calcium et de l'azote. Il paraît résulter de ces expériences que, le plus généralement, le lait concentré est préférable au lait pasteurisé comme source de calcium, de phosphore et d'azote.

KRAMER, LATZKE et MM. SHAW (35) reprennent les mêmes expériences. Ils établissent le métabolisme du phosphore et du calcium en ajoutant à une nourriture constante différents laits : cru, desséché, pasteurisé ou concentré. Les expériences sont faites sur des enfants et des adultes. Voici les conclusions des

auteurs : Les enfants fixent plus de calcium quand celui-ci est fourni par le lait frais que lorsqu'il est fourni par une quantité équivalente de lait sec. De même, pour tous les adultes, le lait frais est une meilleure source de calcium que le lait sec et que le lait pasteurisé. Cependant, pour les adultes, le lait concentré donne un même métabolisme du calcium qu'avec le lait frais. Quant au phosphore en général son métabolisme suit celui du calcium. Ceci s'explique du fait que le lait concentré est habituellement évaporé dans le vide et que, par conséquent, les modifications colloïdales y sont moins sensibles.

TROUBLES DUS A LA CARENCE EN SELS MINÉRAUX

Cela nous amène à examiner les différentes études qui ont été faites sur les carences de phosphore et de calcium et leurs relations avec le rachitisme. Autant dire que nous avons à faire presque tout l'historique du rachitisme expérimental. Nous laisserons de côté les travaux concernant la vitamine anti-rachitique, nous limitant simplement aux carences salines.

C'est MELLANBY qui, en 1918 (15), inaugure l'étude du rachitisme expérimental.

Le plan d'étude qu'il établit fut suivi par tous les auteurs qui reprirent ces expériences.

MELLANBY soumit ses sujets, de jeunes chiens, à des régimes pauvres en calcium et en vitamine hydrosoluble. Il ne réussit, du reste, à obtenir que de l'os-

téoporose et de la xérophthalmie. L'examen histologique des os était fait minutieusement, ainsi que le dosage du calcium osseux. Au cours de l'évolution de l'affection, les animaux étaient suivis radiologiquement.

C'est la critique des résultats obtenus par Mellanby qui amena une suite fructueuse d'expériences.

C'est ainsi que M. COLLUMD, SINIMONDS SHIPLEY et PARK, en 1912 (59), observèrent que l'emploi de régimes mal établis, spécialement ceux déficitants en vitamine liposoluble et surtout en phosphore et calcium provoquaient chez les rats de leur laboratoire des lésions identiques à celles du rachitisme humain.

Les travaux ultérieurs de SCHERMAN et PAPPENHEIMER en 1921 (61) établirent des notions plus précises. Des lésions identiques à celles du rachitisme spontané chez le rat furent provoqués en soumettant les sujets à un régime suffisant en calcium mais déficient en phosphates.

Voici le régime le plus couramment employé par Pappenheimer et dit *régime 84* :

Pour 100 grammes d'aliments.

Farine de blé.....	95 gr.
Lactate de calcium.....	3 gr.
Chlorure de sodium....	2 gr.

Avec un tel régime, nettement déficient en phosphore alors que le calcium y est en quantité suffisante et de plus complètement dépourvu de vitamines, les rats deviennent rapidement cachectiques et pré-

sentent de précoces déformations. En 60 jours les animaux meurent complètement épuisés.

Dès le 8^e jour apparaissent des lésions macroscopiques nettes de rachitisme : chapelet costal, élargissement des portions juxta-épiphyssaires des os longs, puis déformation thoracique, fractures spontanées, dents décalcifiées et fragiles. Au bout d'un mois les rats présentent une évidente ciphose vertébrale. La radiographie montre nettement la décalcification osseuse avec irrégularité de la ligne d'ossification et élargissement des extrémités diaphysaires, caractéristiques du rachitisme.

Continuant ses recherches, PAPPENHEIMER avec MC CANN, ZUCKER et HESS (50), constata que pour la production de ce rachitisme la carence de vitamine A n'entre nullement en ligne de compte, seule importe la teneur en phosphates inorganiques.

SHIPLEY, MC CANN, SIMMONDS et PARK parviennent à empêcher l'apparition du rachitisme chez des rats soumis au régime 81 de Pappenheimer en ajoutant à ce régime une faible quantité de phosphore. Il suffit de 75 milligrammes de phosphore pour 100 grammes d'aliments. En tout cas un minimum de 50 milligrammes est nécessaire. Le régime est alors ainsi composé :

Farine de blé.....	95 gr.
Lactate de calcium.....	2 gr. 5
Chlorure de sodium....	2 gr.
Phosphate bi-potassique.	0 gr. 4
Citrate ferrique	0 gr. 1

Par des expériences comparatives les auteurs éliminent le fait d'une action possible du potassium. Seul l'ion P est efficace. De même le phosphore de la caséine du lait est sans effet sur le rachitisme. Seul un sel inorganique de phosphore peut le prévenir. Les animaux en expérience sont examinés aux rayons X de même que sont faits des examens histologiques et des analyses chimiques des os. Le supplément de phosphate de potassium accroît l'assimilation et le dépôt normal du calcium. Si le régime contient un excès de phosphore, mais est très déficient en calcium, des lésions analogues à celles du rachitisme se produisent, mais avec des localisations enchondrales moins prononcées.

Tous ces faits sont confirmés par les travaux de ZELVA, GOLDING, DRUMMOND (13) et COWARD, puis par MACKAY (38) et TOZER.

D'autre part les variations du calcium et du phosphore sanguin au cours du rachitisme ont été soigneusement étudiées. HOWLAND et KRAMER (32) constatent que pendant la période active de l'affection le calcium du sérum sanguin n'est pas spécialement affecté tandis que le phosphore inorganique est nettement diminué. HESS, UNGER (23-24) et GYORGY (21) confirmaient ces résultats. Citons aussi les noms d'OGLER (48), TELFER (64), SCHABAD (55) et FREUND (15) et de VON MEYSENBOURG (47).

En corrélation avec les dosages effectués par A. BLANCHETIÈRE (6) sur des laits à différentes saisons, BOAS et CHICK (8) étudiant l'influence sur la rétention

du calcium chez de jeunes rats nourrissent leurs sujets de laits prélevés à différentes saisons. Dans ce cas c'est la nourriture et la stabulation de la vache qui varient. Seuls les pâturages d'été permettent d'obtenir une calcification suffisante. D'autre part LUNDAYER et HESS (24-26) montrent qu'il y a des oscillations saisonnières concordantes du taux du phosphore sanguin et de la tendance au rachitisme.

LE LAIT

Empruntons au Pr. PORCHER (52) la définition suivante du lait :

— Le lait complet est une *émulsion* par la dispersion de la matière grasse qu'il renferme. Cette matière grasse est variable. Si le lait est écrémé, nous obtenons la partie fixe du lait dont les oscillations sont relativement faibles lorsque toutes autres conditions : alimentation, état de santé, régularité des traites sont invariables.

Le lait complètement écrémé est une *solution* mixte de colloïdes et de cristalloïdes.

Considéré comme solution colloïdale le lait contient :

a) des matières organiques, des protéines : la caséine, de l'albumine et des globulines.

b) des matières minérales; phosphates de chaux et de magnésie.

Débarrassé de ses matières grasses et de ses colloïdes, le lait est une solution ionique par ses sels, et une solution moléculaire par ses non-électrolytes. Les sels électrolytes sont le chlorure de sodium, le chlorure de calcium, les phosphates mono et bi-potas-

siques, et les citrates tri-potassiques, tri-magnésiens et tri-calciques.

En diverses circonstances les principaux déplacements d'équilibre de cette *solution ionique* sont les suivants :

1° si les phosphates baissent, l'acide citrique baisse parallèlement et les chlorures montent;

2° cette baisse des phosphates entraîne la diminution de l'acidité;

3° le développement de l'alcalinité du lait, c'est-à-dire, la marche du p H vers 7 et même au delà va avec l'augmentation du taux des chlorures.

Considéré comme *solution moléculaire* le sérum du lait comprend :

a) le lactose qui est le facteur principal de l'indice de réfraction du lait;

b) un ensemble azoté, mais non protéique, qui dépend pour une part de l'alimentation, et qui est un produit d'excrétion de la mamelle.

Il existe, là aussi, un équilibre déterminé de la façon suivante : lorsque le lactose baisse l'azote non protéique monte.

Il faut noter aussi dans le lait la présence d'acide carbonique qui, existant après la traite dans une proportion moyenne de 10 % en volume, tombe en général vers 1 % par suite de l'agitation en cours de transport. Cet acide joue un rôle important dans la solubilisation du phosphate de chaux. Le chauffage fait encore tomber le taux d'oxygène qui peut devenir égal à 0 lorsqu'il y a ébullition prolongée à l'air libre.

**Classification des composants du lait sur la base des dimensions
des particules dissoutes ou en suspension :**

5 μ					
1 μ	MATIÈRE GRASSE <u>A L'ÉTAT NATUREL</u> <i>(Globules sphériques de 1 μ.5 à 8-10 μ Diamètre moyen autour de 4 μ.) Leur émulsion est peu stable</i>	ÉMULSIONS - SUSPENSIONS <i>(Partic. dispers. Liquides) (Particules dispersées Solides)</i>			Champ du Microscope
0,1 μ (100 μ m)	MATIÈRE GRASSE <u>HOMOGENÉISÉE</u> <i>"Poussière" de particules grasseuses dont l'émulsion est stable</i>				
50 μ m	PHOSPHATE DE Ca <i>(Colloïde irréversible) ou instable</i>		SOLUTIONS COLLOÏDALES		Champ de l'Ultra- microscope
20 μ m	CASÉINATE DE Ca <i>(Colloïde réversible) ou stable</i>		COLLOÏDES MICELLAIRES <i>Retenus sur bougie de porcelaine</i>		
5 μ m	ALBUMINE <i>(Colloïde réversible)</i>		COLLOÏDES MOLÉCULAIRES		Champ amicros- copique
0,1 μ m	SOL IONIQUES <i>{ Chlorures Phosphates de H Citrate</i> SOL MOLÉCULAIRES. Lactose		<i>Filterent sur bougie de porcelaine</i> SOLUTIONS CRISTALLOÏDES		

Tableau emprunté au Pr. Ch. PORCHER (Bull. Soc. de Chimie biol., 1926, VIII, n° 9.

Le Pr. PORCHER établit la classification des principes du lait sur la base des dimensions des particules qui le composent. Ces dimensions conditionnent en effet l'état physique des différents corps, leurs réactions et leurs propriétés physico-chimiques. Cette classification est celle d'Ostwald fait d'après les systèmes dispersés, ainsi appelés parce qu'ils résultent de la dispersion des particules dans les liquides.

D'après le tableau du Pr. Porcher, que nous reproduisons ici, voici donc la classification des composants du lait d'après la dimension de leurs particules.

a) toutes les particules de diamètre supérieur à $0\mu,1$ sont soit en suspension, soit en émulsion;

b) les particules comprises entre $0\mu,1$ et $5\mu\mu$ répondent aux solutions colloïdales de Graham ou aux solutions apparentes de Selmi;

c) les particules inférieurs à $5\mu\mu$ forment les solutions vraies et comprennent :

α) les solutions ioniques; les corps dissous étant les électrolytes;

β) les solutions moléculaires où les corps dissous ne sont pas des électrolytes susceptibles de se scinder en ions.

C'est en partant du principe de cette classification que nous allons différencier nos sels solubles et nos sels colloïdaux de calcium, de phosphore et nos composés azotés. L'ultra-filtration va nous permettre de les séparer.

Le calcium et le phosphore total restant les mêmes pour un même lait cru ou chauffé, ce que nous cher-

chons à établir c'est le coefficient $\frac{\text{sel soluble}}{\text{sel colloïdal}}$ dans chaque cas. Le quotient obtenu pour 100 gr. de calcium ou de phosphore pouvant peut-être nous permettre d'établir la cause des troubles d'assimilation des laits différemment chauffés.

L'ULTRAFILTRATION

Depuis les expériences de MALFITANO en 1904 (44) on sait qu'il existe des membranes qui ont la propriété de laisser passer des molécules très petites et de retenir toutes celles de dimension supérieure à la taille critique; tout au moins pendant un temps donné. Ce principe a d'abord été appliqué à la dialyse. Mais ce procédé a l'inconvénient de nécessiter une diffusion parallèle du solvant.

Si l'on fait passer le liquide sous pression à travers la membrane en même temps qu'un appel est fait par le vide sur l'autre face on réalise alors l'ultra-filtration. La vitesse de filtration sera plus ou moins grande et dépendra de la pression, des dimensions des pores, de la température et de la viscosité du liquide à ultra-filtrer. Elle répond à la loi de Poiseuille.

Différents dispositifs de filtration ont été expérimentés. Bechhold employait une cuve de cuivre dont une extrémité était obturée par une feuille de papier-filtre imbibée de collodion posée sur une crépine. La pression est exercée par des gaz comprimés.

GIEMSA a mis au point une méthode beaucoup plus

commode. La cuve de cuivre est remplacée par une bougie de porcelaine perforée.

Toute l'ultra-filtration dépend du filtre employé. Les pores des membranes sont plus fins que ceux des bougies. Ils sont en général compris entre 2 ou 3 $\mu\mu$ et 200 $\mu\mu$ (de 0,000002 à 0,0002 millim. ⁽¹⁾).

HITCHCOCK ⁽¹⁾, employant la méthode de Guérout qui est une application de la loi de Poiseuille à la vitesse de l'eau à travers les membranes de collodion, calcule que les pores doivent avoir des rayons de l'ordre de 0,3 à $2,10^{-6}$ cm, soit de $0\mu\mu,3$ à $2\mu\mu$. Le nombre des pores doit être de 270 à 7.10^{10} par cm^2 . Le nombre diminuant, la taille augmente. A l'ultra-microscope de telles membranes se montrent parfois formées de grains et de filaments de collodion d'épaisseur bien moindre que 1.10^{-4} cm.

Les membranes les plus employées sont celles que l'on prépare au moyen de la nitro-cellulose ou autres composés cellulosiques.

Nous avons employé des membranes formées d'un papier-filtre sans cendres servant de soutien à une solution de collodion dans de l'acide acétique. Cette solution est obtenue par la dissolution de 10 grammes de collodion dans 100 grammes d'acide acétique glacial.

Ces membranes ne laissent passer ni l'hémoglobine en solution à 5 p. 100 ni la peptone de Witte en solution à 1 p. 100. Ce sont ces deux solutions que

() J. DUCLAUX et J. ERRERA (14).

Blum et M. Delaville emploient pour éprouver l'étanchéité de leurs filtres.

En réalité de tels filtres retiennent des molécules encore plus petits. Une solution de bilirubine donne un filtrat absolument incolore ⁽¹⁾, or la bilirubine a un poids moléculaire de 570. Le nitrate de strychnine, dont le poids moléculaire est de 397, marque la limite entre les substances qui passent et celles qui ne passent pas au travers des pores de la membrane de collodion acétique. On doit cependant se représenter une telle membrane comme traversée de tubes capillaires d'inégale section, puisque, même, on peut retrouver dans un volume important de filtrat des traces de strychnine. Ces traces sont presque impossibles à déceler par les techniques chimiques habituelles, mais donnent sur la grenouille une réaction physiologique bien caractérisée.

Voici le dispositif d'ultra-filtration tel qu'il est installé dans le laboratoire de M. DELAVILLE.

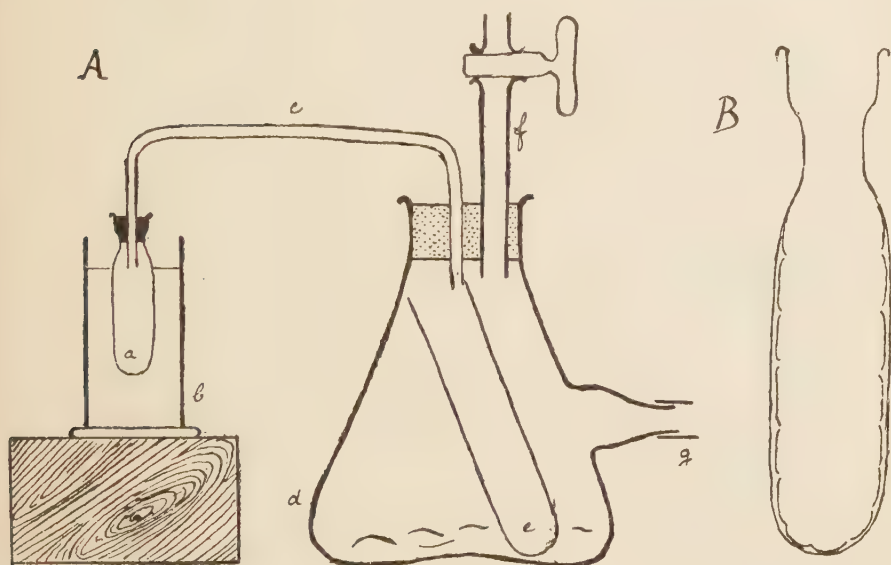
Le filtre est composé de deux parties, un support et une membrane. Le support est lui-même formé de deux parties :

Il s'agit d'abord d'une petite bougie de verre perforé préalablement dégraissée à l'alcool et à l'éther et séchée à l'étuve. Elle est gantée de la seconde partie du support, une petite cartouche de papier non encolé et sans cendres.

Le support ainsi préparé est plongé dans la solu-

(1) H.-C. STASSANO et A. DE BEAUFORT (63).

tion de collodion acétique à 10 % qui doit former la membrane. La couche ainsi obtenue doit être mince et uniforme; regardée à contrejour ne doit laisser passer aucune fibre de papier et de plus être sans bulle.



A. DISPOSITIF D'ULTRAFILTRATION. — a) bougie filtrante; b) liquide à ultrafiltrer; c) capillaire; d) fiole à vide; e) ultrafiltrat; f) relation avec la trompe à vide; g) relation avec le manomètre.

B. BOUGIE FILTRANTE.

Le filtre ainsi préparé est plongé dans l'eau distillée froide que l'on renouvelle pendant trois ou quatre heures aussi fréquemment que possible : tous les quart d'heure par exemple. Lorsque l'eau de lavage paraît ne plus présenter l'odeur d'acide acé-

tique on laisse baigner le filtre dans l'eau distillée jusqu'au moment de l'emploi. Le filtre peut être utilisé au bout de douze heures après séchage soigneux intérieur et extérieur; ce séchage est achevé pendant quelques minutes à la trompe à eau.

Sur la bougie un tube capillaire, deux fois coudé à angle droit, est ajusté par un bouchon de caoutchouc élastique. L'autre extrémité du tube capillaire plonge dans une fiole conique reliée latéralement à un manomètre à mercure. Un tube à robinet relie la fiole à une trompe à eau. Dans la fiole un tube à essai stérile dans lequel plonge le tube capillaire recueillera l'ultra-filtrat.

Le fond de la fiole est recouvert d'une couche de coton imprégnée d'eau et de chloroforme; précaution nécessaire qui évite d'une part l'évaporation de l'ultra-filtrat, d'autre part le développement de moisissures.

Le liquide à ultra-filtrer est mis dans un récipient étroit. Le filtre plonge dans le liquide et pendant toute l'opération celui-ci doit toujours dépasser d'au moins un demi-centimètre le niveau supérieur des perforations de la bougie. Une couche de paraffine pourra protéger le liquide à filtrer du contact de l'air et de ses poussières. Mais pour le lait il est à craindre que cette huile dissolve une partie des corps phosphorés.

Le vide étant fait dans la fiole le robinet du tube qui relie à la trompe à eau est fermé. Lorsque la bougie est au $\frac{1}{5}$ ou au $\frac{1}{4}$ remplie (au bout d'une demie ou d'une heure) on arrête l'opération pour

jeter ces premières gouttes. Puis le vide est fait à nouveau. L'appareil bien assujetti, il doit être inutile de refaire le vide jusqu'à la fin du filtrage. Celui-ci du reste ne doit pas être trop prolongé. Trois ou quatre heures en général suffisent pour recueillir une quantité suffisante d'ultra-filtrat.

MÉTHODES DE DOSAGE

Voici quelles furent les différentes méthodes de dosage auxquelles nous eûmes recours dans les différentes parties de ce travail.

DOSAGE DU CALCIUM. — Pour le dosage du calcium nous avons emprunté la micro-méthode de HIRTH.

Les matières organiques du liquide à étudier sont détruites par incinération. Les cendres obtenues sont dissoutes par l'acide chlorhydrique. Le fer et l'acide phosphorique sont précipités sous forme de phosphate ferrique et d'acétate basique de fer.

Le calcium est alors précipité à l'état d'oxalate. Cet oxalate incinéré donne de la chaux que l'on dissout dans un excès connu d'acide chlorhydrique titré. Cet excès est dosé par la soude et la différence donne la teneur en calcium de l'échantillon analysé.

Pour le lait les prises seront de 1 ou 2 cc.

DOSAGE DU PHOSPHORE. — Nous nous sommes adressé à la méthode de M^{me} SØRENSEN modifiée par M. MACHEBŒUF (37).

On procède tout d'abord à la destruction sulfonitrique des matières organiques. Le phosphore est précipité sous forme de phospho-molybdate d'ammoniaque. Ce précipité après lavage est recueilli sur un filtre de Pregl. Puis il est dissous avec de l'ammoniaque. On procède alors au dosage du phosphomolybdate par différence après déplacement par la soude.

La quantité de lait ou d'ultra-filtrat utilisée pour chaque dosage a été de 0 cc 250.

DOSAGE DU CHLORE. — Nous avons fait appel à la méthode de CARIUS modifiée par M. DELAVILLE et D. BRAUN (12).

Comme toujours les matières organiques sont détruites à l'aide d'acide nitrique nitreux, destruction accélérée par l'addition de permanganate de potasse. En même temps le chlore est précipité sous forme de chlorure d'argent. Le précipité bien isolé est recueilli et pesé suivant la méthode de Pregl. Les dosages ont été effectués sur 1 ou 2 cc de lait ou d'ultra-filtrat.

DOSAGE DE L'AZOTE. — Nous avons employé la microméthode de KJELDHAL.

En même temps que les matières organiques sont détruites par l'acide sulfurique l'azote est transformé en sulfate d'ammoniaque. L'ammoniaque de ce sel est distillé en chauffant avec une base forte telle que la soude. Le gaz est reçu dans une quantité connue d'acide sulfurique. Un dosage à la soude en titrant

l'acide neutralisé permet de calculer l'ammoniac dégagé.

Il est préférable pour le lait cru d'utiliser de petits échantillons de 0 cc 25 à 0 cc 50, mais pour les ultra-filtrats, il est plus prudent d'opérer sur des volumes doubles des précédents.

Pour toutes nos prises nous avons fait usage de micro-pipettes de Cornec-Cottet.

CONDITIONS D'EXPÉRIMENTATION

Pour mener à bien les expériences que nous avons entreprises et en obtenir le maximum de rendement, il faudrait être installé dans une ferme ou un centre laitier, afin d'avoir le lait cru aussitôt après la traite.

Nous avons cru que le lait fourni par les nourriciers parisiens, facile à se procurer rapidement après la traite, répondrait aux conditions demandées. Mais, tandis que dans une ferme rurale les vaches sont assurées des meilleures conditions d'alimentation, d'aération et de lumière, celles des nourriciers parisiens ne quittent jamais l'étable et n'ont que peu de fourrage frais, d'ailleurs de qualité inférieure, et des déchets et tourteaux complètent largement cette alimentation.

Pour nos dernières expériences, particulièrement celles portant sur le phosphore et l'azote, nous nous sommes adressé à une laiterie un peu plus éloignée du laboratoire, mais qui présentait pour nous de gros avantages (laiterie du champ de course d'Auteuil). Le lait y est recueilli proprement, et distribué immédiatement dans les vases qui serviront au transport.

Ceux-ci sont refroidis rapidement à 4° C. Le lait nous est livré dans les 4 à 5 heures qui suivent la traite. Les vases étant de un demi ou d'un litre, leur petite taille diminue le brassage que le transport fait subir au lait. Ce lait offre toutes les garanties possibles de propreté bactérienne, car le p H du lait ne varie pas dans des limites sensibles dans les douze heures qui suivent la traite même si le lait est maintenu à une température supérieure à 15° C.

De plus, les vaches de la laiterie du champ de course d'Auteuil sont soignées suivant des principes modernes d'hygiène. Les étables sont propres et aérées. Le fourrage frais entre pour une grande part dans l'alimentation et tout déchet industriel ou tourteau en est exclu. De plus, cette laiterie a la possibilité de laisser ses bêtes aux prés. Aussi est-elle très connue du corps médical.

A chaque expérience un échantillon de lait cru est réservé sur lequel sont dosés le calcium, le phosphore et l'azote totaux. C'est sur ces chiffres que seront établis nos pourcentages.

Avant d'être traité par la chaleur notre lait est écrémé ainsi que celui que nous ultra-filtrerons cru. Cet écrémage est fait à la centrifugeuse pendant dix minutes environ (à raison de 3.600 tours à la minute). On obtient alors un sérum qui permet un filtrage plus rapide.

Des échantillons de ce lait écrémé sont soumis à divers modes de chauffage.

Chauffage à température basse : 63°, 70° et 95° C.

Ebullition à l'air libre.

Et chauffage à l'autoclave à 120 ou 125°.

Les laits sont chauffés à basse température par ruissellement le long de tubes horizontaux portés aux températures voulues. La hauteur des rangées de tubes atteint environ 2 m. 50.

Le lait porté à l'ébullition est chauffé à environ 100° pendant 10 minutes dans un ballon à long col afin de permettre à la vapeur de se condenser en partie et diminuer ainsi l'évaporation.

Le lait chauffé au-dessus de 100° est porté en vase clos à l'autoclave pendant 15 minutes.

L'ultra-filtrat de ces différents laits est un liquide limpide ou à peine opalescent. Il est acide à la phénol-phtaléine, neutre au tournesol et fortement alcalin au méthyl orange. L'enduit visqueux qui reste sur la bougie est chimiquement formé de caséinate de chaux et de phosphate de chaux avec une forte proportion d'albumine et d'un peu des substances qui sont en solution dans l'eau. Le sérum obtenu par filtration à la bougie Chamberland la plus dure fournit à l'ultra-microscope un fond sombre sur lequel ne se détachent que quelques points lumineux. Les miscelles visibles y sont donc rarissimes pour ne pas dire absents (Pr. Porcher).

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

pH :

Pendant tout le temps du filtrage le lait est contenu dans un récipient étroit entouré de glace fondante ou maintenu dans un endroit frais. Malgré cela il faut s'assurer que le lait n'aigrit pas, ce qui est facile en mesurant l'acidité du lait à des périodes différentes de l'opération.

Ces mesures ont été faites en prenant le pH du liquide. Nous avons pour cela employé la méthode électrométrique en nous servant de l'électrode à quinhydrone. Il ne nous a pas été possible de prendre le pH immédiatement après la traite. C'est à l'ouverture du récipient contenant le lait que nous faisons la première mesure (4 à 6 heures après la traite). D'autres déterminations ont été faites à des temps plus éloignés. Enfin sur un même lait cru ou chauffé nous avons repris les mêmes mesures.

Cosmovici (11) a publié un intéressant tableau de mesures de pH faites sur des laits crus et chauffés. Les résultats qu'il a obtenus ont démontré nettement que « le pH est modifié par la chaleur. La grandeur

de cette modification est fonction de la température et de la durée du chauffage; cette action est irréversible. Il s'ensuit que l'état d'équilibre des composés colloïdaux du lait est modifié par la chaleur ».

Ses mesures de p H sur le lait cru varient entre 6,75 et 6,61.

Voici les chiffres que nous obtenons :

1° sur les laits des laiteries parisiennes, c'est-à-dire sur des laits présentant des conditions bactériennes douteuses :

p H = 6,79
6,56
6,65

Rappelons en passant que Ch. Porcher fait remarquer que le mouillage du lait développe la marche vers l'alcalinité, ce qui expliquerait peut-être le premier chiffre 6,79 qui est un peu élevé.

2° sur le lait de la laiterie du champ de course d'Auteuil nous avons les chiffres suivants :

p H = 6,67
6,70

Sur ce dernier lait écrémé nous avons refait une mesure qui nous a donné 6,66.

Un de nos laits provenant de la laiterie d'Auteuil fut maintenu pendant plus de 5 heures après l'ouverture du vase, c'est-à-dire 9 à 10 heures après la traite, dans un tube stérile et bouché à une température de 22° C. Le p H obtenu fut de 6,61.

Nous pouvons en conclure que nos ultra-filtrats sont constants et homogènes pendant toute la durée

de l'opération et d'un échantillon à l'autre se trouvent dans les mêmes conditions physico-chimiques. Car on sait, et nous le vérifierons, qu'à mesure que l'acidité du lait augmente, le taux de calcium ultrafiltrable augmente pour devenir égal au calcium total contenu dans le lait lorsque celui-ci est complètement aigri.

Il est donc très important de faire nos ultrafiltrations le plus rapidement possible et de les terminer le plus tôt possible. Du reste il n'est pas utile d'obtenir de grosses quantités d'ultra-filtrat, 5 à 6 cms cubes suffisent, car nous verrons que pour la plupart de nos dosages des fractions de centimètre cube sont suffisantes pour chaque dosage.

Nous avons aussi sur un même lait vérifié les variations subies par le p H au cours du chauffage.

Un lait, ayant cru un p H égal à 6,79 voit, porté à l'ébullition, son p H baisser à 6,51.

Cosmovici donne des chiffres variant exactement dans les mêmes limites et les mêmes proportions.

Voici du reste aussi quelques chiffres personnels que nous avons obtenus avec un lait chauffé à différentes températures.

Lait cru	p H = 6,64
Lait 65° (15')	6,57
Lait bouilli (1')	6,61
Lait autoclavé 120° (15')	6,38

Ces chiffres, comme ceux de Cosmovici, montrent bien à la fois l'influence de la température et de la durée du chauffage.

CHLORE :

C'est pour vérifier par un moyen simple et rapide l'évaporation que le chauffage et plus particulièrement l'ébullition font subir au lait que nous avons dosé le chlore dans quelques-uns de nos échantillons.

La méthode de Carius, modifiée par M. Delaville et D. Braun, nous a permis d'obtenir des résultats des plus rigoureusement précis.

Pour un même lait :

	Lait cru	Lait chauffé à 100°
Chlore par litre de lait	1 gr. 33	1 gr. 335

Le tableau suivant présente une série de dosage de chlore plus étendue sur l'échelle des températures.

Lait cru.....	chlore obtenu par litre	0 gr. 98
Lait chauffé à 65° (15')	—	0 gr. 99
Lait bouilli (1')	—	1 gr.
Lait autoclavé à 120° (15')	—	1 gr. 04

L'évaporation serait donc ici de l'ordre de un dix millième à quelques cent millièmes pour un litre de lait.

Les différences qui existent d'un chiffre à l'autre sont dans les limites d'erreur de prise et de pesée. Rappelons que pour l'ébullition nous employons un ballon à col long afin de permettre à la vapeur d'eau de se condenser et de retomber dans le liquide.

CALCIUM :

C'est en calcium que sont exprimés nos résultats

dans la recherche des sels solubles. Il est dosé par la microméthode de Hirth.

Quelle est tout d'abord la teneur totale en calcium des laits que nous employons? L'examen des différents chiffres que nous obtenons nous permet d'observer le changement qui se produit de l'hiver à l'été.

Pendant les mois d'hiver, de décembre à avril, nous obtenons les résultats suivants (le calcium étant donné pour un litre de lait) :

1 gr. 10;
1 gr. 135;
1 gr. 134;
1 gr. 180;
1 gr. 014;
1 gr. 002;
1 gr. 088;
1 gr. 163;
1 gr. 016.

Pendant les mois plus chauds, et surtout les bêtes ayant du fourrage frais : d'avril à juillet, nous obtenons :

0 gr. 930 de calcium par litre de lait;
0 gr. 817;
0 gr. 951;
0 gr. 901.

Ces différences sont en accord avec les travaux de A. BLANCHIÈRE. Rappelons, d'après cet auteur, que le sodium et le potassium diminuent en hiver tandis que le calcium augmente sensiblement. En été le fac-

teur A, entrant en plus grande quantité dans l'alimentation, il se fixe une plus grande quantité de calcium dans l'organisme et il y en a moins dans le lait.

Nous allons maintenant donner les résultats de calcium total que nous obtenons sur un même lait après différents chauffages.

1° Lait frais.....	1 gr. 10	de Ca pour 1 l. de lait.	
Lait chauffé à 63°	1 gr. 13		—
— 75°	1 gr. 16		—
— 95°	1 gr. 16		—
2° Lait frais.....	1 gr. 1428		—
Lait chauffé à 63°	1 gr. 135		—
— 75°	—		—
— 95°	1 gr. 130		—
3° Lait frais.....	1 gr. 134		—
Lait chauffé à 63°	1 gr. 141		—
— 75°	1 gr. 120		—

Ces chiffres n'ont d'autre utilité que de montrer la précision de la méthode, l'évaporation étant nulle à de telles températures, et avec un temps aussi court de chauffage.

Afin de mesurer les variations de sels solubles de calcium, nous avons d'abord soumis le lait à de basses températures, c'est-à-dire au-dessous de 100°. Dans une seconde série le lait est bouilli et autoclavé.

Les températures inférieures à 100° auxquelles le lait est soumis s'échelonnent de 63° à 95°.

Comparons entre eux les chiffres obtenus :

lait total	u. f. de lait chauffé à 63°	u. f. de lait chauffé à 75°	u. f. de lait chauffé à 95°
1 gr. 10	0 gr. 315	—	0 gr. 430
1 gr. 135	0 gr. 287	0 gr. 345	0 gr. 385
1 gr. 134	0 gr. 288	0 gr. 330	—
1 gr. 088	—	—	u. f. de lait chauffé à 86° 0 gr. 338

Le calcium ultra-filtrable, c'est-à-dire la proportion en sels solubles de calcium augmente avec la température par de faibles mais sensibles graduations.

La seconde série de dosage portant sur des laits chauffés à 100, 120 et 125° se présente de la façon suivante :

lait total	u. f. lait cru	u. f. de lait bouilli	u. f. de lait chauffé à 120°	u. f. de lait chauffé à 125°
1 gr. 014	0 gr. 362	0 gr. 280	—	—
1 gr. 002	0 gr. 306	0 gr. 454	—	—
1 gr. 088	0 gr. 337	0 gr. 380	—	—
1 gr. 163	0 gr. 284	0 gr. 301	—	0 gr. 246
1 gr. 010	0 gr. 304	0 gr. 401	—	0 gr. 397
0 gr. 817	0 gr. 382	0 gr. 415	0 gr. 229	—
0 gr. 951	—	0 gr. 359	0 gr. 274	—
0 gr. 930	0 gr. 322	—	—	—

Les sels solubles de calcium continuent à augmenter dans le lait bouilli.

L'ultra-filtrat de lait cru contient une proportion de calcium variant entre 30 et 45 % du calcium contenu dans le lait frais non ultra-filtré.

Le calcium ultra-filtrable que nous avons vu augmenter pour les laits chauffés à basse température

augmente dans de plus grandes proportions lorsque nous atteignons la température de 100° C. Le calcium que nous retrouvons dans l'ultra-filtrat de lait bouilli varie par rapport au calcium que contient le lait frais dans des proportions analogues à celles du calcium contenu dans l'ultra-filtrat de lait non cuit, c'est-à-dire entre 30 et 45 %. Mais si nous comparons entre eux nos ultra-filtrats de lait cru et de lait bouilli pour un même lait, nous constatons que l'augmentation pour le lait bouilli est de 10 à 15 % du calcium total.

Lorsque nous atteignons la température de 120°, c'est-à-dire avec la stérilisation en autoclave, nous trouvons dans l'ultra-filtrat un chiffre de calcium inférieur à celui de l'ultra-filtrat de lait bouilli et en général à celui de l'ultra-filtrat de lait cru.

Au cours de nos expériences nous avons recherché ce que devenait le calcium lorsque le lait était complètement aigri. Pour cela nous avons séparé le coagulum du sérum et mis à ultra-filtrer ce dernier.

Une première fois nous avons trouvé :
pour le sérum de lait caillé, 1 gr. 19 de calcium par litre de liquide, chiffre supérieur à celui du calcium contenu dans le même lait frais non ultra-filtré et qui était de 1 gr. 014 par litre de lait.

Lors d'une seconde expérience nous avons recherché le calcium contenu dans le sérum de lait caillé avant ultra-filtration et nous avons trouvé :

1 gr. 178 par litre de sérum;

dans l'ultra-filtrat du même sérum nous avons trouvé :
0 gr. 952 par litre de sérum.

80 % environ du calcium est donc ultra-filtrable dans le lait caillé.

Dans le premier cas le lait frais contient à la fois le calcium correspondant au sérum et au coagulum, donc la concentration du calcium est plus faible dans le lait total que dans le sérum de lait coagulé. C'est ce qui explique le fait que nous trouvions dans le sérum acide un chiffre de calcium plus élevé que celui trouvé dans le même lait frais.

PHOSPHORE :

Nous allons présenter de la même manière que pour le calcium les résultats que nous avons obtenus en recherchant les transformations subies par les composés organiques et inorganiques du phosphore.

Donnons tout d'abord les chiffres de phosphore que nous avons obtenus dans le lait non ultra-filtré. Nos analyses ont été faites tantôt sur le lait cru tantôt sur le lait autoclavé, ce dernier ayant la même concentration minérale que le lait cru puisqu'il ne peut s'évaporer.

Voici les chiffres obtenus sur les laits de divers nourriciers parisiens :

1 gr. 002 de phosphore par litre de lait ;
1 gr. 113 —

Puis voici ceux obtenus sur du lait provenant de la laiterie du champ de course d'Auteuil ;

1 gr. 733 de phosphore par litre de lait;

1 gr. 335 —

1 gr. 023 —

Les différents auteurs WHA (68) A. KHING et A. LASSIEUR (29-30), Lenstrup Ejnar obtiennent des résultats variant entre 0 gr. 880 et 0 gr. 960 de phosphore par litre de lait.

Examinons maintenant les résultats que nous obtenons pour les résultats de ces mêmes laits :

Lait non ultra-filtré.	ultra-filtrat de lait non chauffé.
1 gr. 002 de phosphore par litre	0 gr. 260
1 gr. 113 —	0 gr. 335
— —	0 gr. 323
1 gr. 733 —	0 gr. 309
1 gr. 023 —	0 gr. 435

WHA obtient dans ces ultra-filtrats une valeur moyenne de 0 gr. 325 de phosphore par litre de lait. La moyenne que nous obtenons est de 0 gr. 350, donc assez voisine de celle de cet auteur.

Nous pourrions donc supposer que les laits que nous avons employés sont beaucoup plus riches en composés organiques du phosphore et en phosphates liés à la caséine.

Mais, d'autre part, nous tenons à faire remarquer que les auteurs n'emploient pas la même méthode que nous. Ils ont recours à l'incinération d'où perte de phosphore sous forme de produits volatiles.

Recherchons maintenant les variations que la chaleur a fait subir à l'équilibre phosphoré du lait.

Nos expériences n'ont porté que sur des laits

chauffés à 100° à l'air libre et à 120° en autoclave :

Le tableau suivant permet de comparer ces résultats entre eux :

lait total	u. f. de lait cru	u. f. de lait à 100°	u. f. de lait à 120°
1 gr. 123	0 gr. 335	0 gr. 419	0 gr. 418
1 gr. 023	0 gr. 435	0 gr. 591	
		0 gr. 366	0 gr. 414
1 gr. 325		0 gr. 448	

Alors que nous avons en moyenne 28 % de nos composés phosphorés ultra-filtrables dans le lait cru, nous en trouvons 36,5 % dans l'ultra-filtrat de lait bouilli. Ce taux diminue à 33,5 % en moyenne dans l'ultra-filtrat de lait autoclavé, taux cependant supérieur à celui du phosphore ultra-filtrable dans le lait cru.

AZOTE :

Nous conformant aux recherches faites par les précédents auteurs, nous avons aussi recherché les transformations subies par les produits azotés du lait après chauffage.

L'azote total du lait cru que nous obtenons est représenté par les chiffres suivants :

6 gr. 57 d'azote par litre de lait;

6 gr. 58 —

5 gr. 37 —

5 gr. 345 —

7 gr. 61 —

Nous allons examiner les différents chiffres que

nous obtenons avec des laits chauffés à différentes températures.

lait cru	u. f. de lait cru	u. f. de lait à 100°	u. f. de lait à 120°
6 gr. 57	0 gr. 98	1 gr. 60	1 gr. 04
6 gr. 58	0 gr. 90	1 gr. 09	0 gr. 854
5 gr. 37	0 gr. 949	0 gr. 787	0 gr. 921
5 gr. 345	0 gr. 747	0 gr. 744	
7 gr. 61	0 gr. 3026	0 gr. 360	0 gr. 308

Les corps azotés paraissent donc peu touchés par l'action de la chaleur.

A l'ébullition il y aurait peut-être une légère dissociation des corps protéiques.

INTERPRÉTATION

En entreprenant ce travail, nous avons étudié les modifications apportées par le chauffage à l'équilibre physico-chimique du lait.

Nous avons montré que *par le chauffage le pH du lait est modifié dans le sens de l'acidification*, et souvent d'une façon assez notable (6,79 à 6,69).

La teneur en calcium total du lait varie, ainsi que BLANCHETIÈRE l'avait déjà montré, en raison des saisons, par suite de la nature de l'alimentation. *Le taux du calcium total est plus élevé en hiver qu'en été* (1 gr. 1 en hiver, 0 gr. 9 en été par litre de lait).

Au cours du chauffage, la teneur en calcium ultra-filtrable augmente de façon progressive avec la température, jusqu'à l'ébullition (63° : 0 gr. 287 ; 75° : 0 gr. 345 ; 95° : 0 gr. 385). *Si, au contraire, le lait est chauffé sous pression à 120° et 125°, on constate un abaissement du calcium ultra-filtrable*. Dans ces cas il arrive même que le calcium soit moins ultra-filtrable que dans le lait cru (lait cru : 0 gr. 382 ; lait bouilli : 0 gr. 415 ; lait à 120° : 0 gr. 229).

Lorsque le lait est aigri, la presque totalité du calcium (80 %) est diffusible.

La teneur en phosphore total atteint des chiffres plus élevés (1 gr. 113) que ceux habituellement trouvés par les anciens auteurs (0 gr. 9) qui employaient une technique moins précise. Nous avons montré qu'*au cours du chauffage, comme pour le calcium, la teneur en phosphore diffusible augmente* (lait cru : 0 gr. 335; lait à 100° : 0 gr. 419).

Nous avons dosé l'azote total de nos laits et nous avons étudié l'influence du chauffage sur les variations du taux des substances azotées diffusibles. Le chauffage ne semble pas avoir une grande influence. On peut cependant noter qu'après ébullition il y a une légère augmentation du taux de l'azote diffusible.

EN SOMME L'ACTION DE LA CHALEUR INFLUENCE LA REACTION DU LAIT ET LA PROPORTION DE CALCIUM DIFFUSIBLE.

Peut-on tirer de ces faits des conclusions intéressantes en ce qui concerne les phénomènes d'ossification et le rachitisme?

Pour que le calcium soit assimilable, il faut d'abord (mais il ne suffit pas) qu'il existe sous une forme diffusible, ultra-filtrable.

Les variations trouvées pour le taux de calcium ultra-filtrable sont assez faibles et ne nous paraissent pas responsables des troubles de l'ossification. Mais un phénomène intervient qui nous paraît beaucoup plus important : celui de la moins grande facilité d'empresurage du lait bouilli que du lait cru.

On sait en quoi consiste cet empresurage : grâce à l'intervention du *lab ferment* le lait se caille, ce phénomène étant accompagné d'une acidification qui libère le calcium de ses combinaisons protéiniques et permet son utilisation (lorsque le lait est aigre presque tout le calcium est diffusible). Toute cause favorisant l'empresurage vient donc augmenter dans de notables proportions le taux du calcium assimilable.

Sans doute, le taux du calcium ultrafiltrable est plus élevé lorsqu'on fait bouillir le lait, mais ce gain est perdu parce que le lait bouilli s'empresure moins que le lait cru.

Or, il est de toute nécessité de faire bouillir le lait (il est inutile de l'autoclaver) pour éviter aux enfants de graves troubles infectieux résultant soit de l'infection du lait lui-même (tuberculose des bovidés), soit de sa contamination au moment de la traite ou lors des transvasements.

Il nous semble donc que le mieux est d'augmenter le taux du calcium assimilable (diffusible) en favorisant l'empresurage par l'addition au lait bouilli de sels de calcium. Cette conclusion de notre thèse s'appuie en particulier sur les travaux (cités dans notre historique) de RINGER sur la coagulibilité du lait, et ceux de MAGGEE et HARVEY; ces derniers auteurs ayant montré, par l'étude des bilans que l'addition d'une certaine quantité d'un sel de chaux à un lait chauffé favorise la rétention d'une quantité de calcium, double de celle qu'ont fourni les sels de chaux ajoutés.

CONCLUSIONS

Pour être assimilable, le calcium du lait doit être sous forme diffusible, ultrafiltrable.

Le taux du calcium ultrafiltrable est légèrement plus fort dans le lait bouilli que dans le lait cru. Il est au contraire diminué dans le lait stérilisé à l'autoclave.

L'action, dans le tube digestif, du lab-ferment sur le lait augmente la proportion de calcium ultrafiltrable. Elle l'augmente moins sur le lait chauffé que sur le lait cru. Au total il n'y a donc pas avantage au point de vue physiologique à employer le lait chauffé.

Des nécessités bactériologiques commandant cependant l'emploi du lait chauffé dans l'alimentation des enfants, on peut (et on doit en cas de rachitisme) augmenter dans de fortes proportions le taux de calcium assimilable par l'addition, au lait chauffé, de sels de chaux qui favorisent beaucoup l'action du lab-ferment.

BIBLIOGRAPHIE

1. BANCROFT. — *J. Phys. Chim.*, 1920, VIII, 674.
2. BECHHOLD. — *Zeit. Phys. Chim.*, 1907 et 1908, LX et LXIV.
3. BELL. — Effet de la chaleur sur les composés du calcium et du phosphore dans le lait. — *J. Biol. Chemistry*, 1924, LXIV, 391.
4. BIGELOW et GEMBERLING. — Les membranes de collodion. — *Journ. Amer. Chem. Society*, 1907, XXIX, p. 1576.
5. — Les perméabilités du collodion, de l'or battu, du papier parchemin et des porcelaines. — *J. Amer. Chem. Society*, XXIX, p. 1675.
6. A. BLANCHETIÈRE. — Variations saisonnières de quelques éléments minéraux du lait. — *C. R. de la Société de Biologie*, 1925, XCII.
7. L. BLUM et M. DELAVILLE. — L'ultrafiltration et ses applications à l'étude des liquides biologiques. — *La Médecine*, septembre 1925.
8. BOAS et CHICK. — Influence du régime et de la stabulation de la vache sur le calcium de rats recevant une ration de lait dans leur alimentation. — *Biochemical Journ.*, 1924, XVIII, 433.
9. BRUBACHER. — Sur la teneur en sels inorganiques et principalement en calcium des os et des divers

- organes chez les enfants rachitiques et chez les enfants normaux. — *Kinderh. Zeitschrift. für Biol.*, 1890, IX, 517.
10. H. CHICK, V. KORENCHEVSKY et M. H. ROSCOE. — La calcification chez des rats soumis à différents régimes. Différence de composition chimique du squelette chez de jeunes rats soumis à un régime déficient en vitamine lipo-soluble et en phosphore. — *Biochem. Journ.*, 1926, XX, 622.
 11. N. L. COSMOVICI. — Le pH du lait change-t-il quand le lait a été chauffé à diverses températures. — *C. R. de la Soc. de Biologie*, 23 janvier 1925, p. 75.
 12. M. DELAVILLE et D. BRAUN. — Dosage du chlore dans les organes et dans le sang. — *Bulletin de la Soc. de Chimie biologique*, 15 mars 1927, 621.
 13. DRUMMOND. — Recherches sur la substance accessible liposoluble. I. Observation sur sa nature et ses propriétés. — *Biol. Journal*, 1919, 13-81-84.
 14. J. DUCLAUX et J. ERRERA. — Le mécanisme de l'ultrafiltration. — *Revue générale des Colloïdes*, 1924.
 15. FREUND. — Métabolisme du phosphore dans le rachitisme. — *Jarhb. für Kinderh.*, 1905, XI, 36.
 16. GOLDING JOHN. — Démonstration de quelques changements chimiques du lait par le chauffage à diverses températures. — *The dairyman*, mai 1923, XLV (référence fournie par la revue *Le Lait*).
 17. GOWLAND HOPKINS (F.). — *The dairyman*, 1925 (même référence).
 18. GROLLMAN (Arthur). — Ultrafiltration à travers les membranes de collodion. — *Journ. Génér. Physiol.*, 1926, IX, 813, 826.
 19. GROSSER. — De l'influence du chauffage sur l'équilibre physico-chimique du lait humain, du lait de vache et du babeurre. — *Biochemische Zeitschrift*, 1913, XLVIII, 427.

20. GUÉROUT. — *C. R. Académie des Sciences*, 1872, LXXV, 1809.
21. GYORGY. — Sur la teneur du sérum sanguin en calcium et en phosphore inorganique dans le rachitisme. — *Jahrb. für Kinderh.*, 1922, XLIX, 1.
22. — Sur la répartition du calcium et du phosphore inorganique dans le lait. — *Biochemische Zeit.*, 1923, CXLII.
23. HESS et UNGER. — Régimes des enfants en relation avec le développement du rachitisme. — *Proc. Soc. experitental biology and médecine*, 1919, XVIII, 220.
24. — Une interprétation des variations saisonnières du rachitisme. — *Americ. journ. of diseases of children*, 1921, XXII, 97 et 186.
25. HESS. — Nouveaux aspects du problème du rachitisme. — *J. Amer. Médecine Assoc.*, 1922, XXXIII, 1177.
26. HESS et LUNDAGEN. — Variations saisonnières du phosphore sérique chez les enfants. — *Proc. Soc. experim. biology and médecine*, 1921-22, XIX, 380.
27. HIRTH et TSCHIMBER. — Technique de l'ultrafiltration du plasma. — *C. R. de la Soc. de Biology*, 1924, XCI, 592.
28. HITCHCOCK (David). — La taille des pores des membranes de collodion. — *Journ. Gener. Physiol.*, 1926, IX, 755.
29. A. KLING et LASSIEUR. — L'analyse des laits altérés. — *Annales des falsifications et des fraudes*, février-mars 1922.
30. Détermination de l'acide phosphorique du lait et son application à la recherche du mouillage. — *Annales des falsifications et des fraudes*, avril 1923.
31. KORENCHEVSKY et CARR. — Influence du régime lacté sur le squelette. I. Effet de la chaleur et de l'aéra-

- tion sur la teneur en calcium du lait. — *Bioch. Journ.*, 1923, XVIII, 187.
32. KRAMER et HOWLAND. — La calcémie et le phosphore dans le sang. Leur relation avec le rachitisme. — *Amer. journ. diseases of children*, 1921, XXII, 105.
33. — La concentration du phosphore et du calcium dans le sérum du rat. — *John's Hopkins Hosp. Bull.*, 1922, XXXIII, 313.
34. — Facteurs de la calcification osseuse. — *Trans. Amer. Peding Soc.*, 1922, XXXIV, 204.
35. M. M. KRAMER, E. LATZKE et M. M. SHAW. — Comparaison des laits cru, pasteurisé, évaporé et desséché comme sources de calcium et de phosphore pour l'homme. — *J. Biol. Chemistry*, 1928, CXXIX, 283.
36. LENSTRUP EJNAR. — La teneur en phosphore du lait de femme et du lait de vache. — *Journ. of Biolog. Chemist.*, 1926, CXX, 193.
37. M. MACHEBŒUF. — Méthode permettant le dosage exact du phosphore dans de petites quantités de sang. — *Bull. Soc. Chimie biol.*, 1926, VIII, n° 5.
38. MACKAY. — L'effet d'un régime déficient en graisses animales chez le jeune chat. — *Biochemical Jour.*, 1921, XV, 19.
39. MAC CLENDON. — La valeur diagnostique du métabolisme du phosphore dans le rachitisme expérimental. — *Proc. Soc. exp. biol. and médecine*, 1921-1922.
40. Le métabolisme phospho-calcique dans le diagnostique du rachitisme. — *Ann. Journ. Physiology*, 1922, XI, 373.
41. MAGGEE (H. S.) et HARVEY (D.). — Etude de l'effet de la chaleur sur le lait. I. Quelques changements physico-chimiques produits dans le lait par la chaleur. — *Biochem. Journ.*, 1926, XX, 872.
42. Influence de régimes de lait de vache frais et de

- de lait chauffé sur le métabolisme du calcium, du phosphore et de l'azote chez de jeunes porcs. — *Biochem. Journ.*, 1926, XX, 885.
43. — Quelques effets de la chaleur sur le lait. — *XII^e Congrès international de Physiologie*, Stockholm, 3-6 août 1926. — — —
44. MALFITANO. — *C. R. à l'Académie des Sciences*, 1904, CXXIX, 1221. — — —
45. MELLANBY. — Sur la part du « facteur accessoire » dans la production du rachitisme expérimental. — *Proc. Physiol. Soc.*, 1918; *Journ. of Physiology*, 1918, II.
46. — Recherches expérimentales sur le rachitisme. — *The lancet*, 1919, I, 407.
47. V. MEYSENBOURG. — Le phosphore inorganique dans le lait maternel chez les enfants rachitiques et les enfants normaux. — *Amer. journ. diseases of children*, 1922, XXIV, 200.
48. ORGLER. — Les échanges du calcium chez l'enfant bien portant et l'enfant rachitique. — *Ergebniss d. inn. Medec. und Kinderh.*, 1912, VIII, 132.
49. OSTWALD. — *Koll. Zeit.*, 1918, XXIII, 68.
50. PAPPENHEIMER, MAC CANN, ZUCKER et HESS. — Les effets de quelques modifications dans le régime déterminant le rachitisme expérimental des rats. — *Proc. exp. biol. and medec.*, 1920-21, XVIII, 267.
51. PELLET (A.). — Contribution à l'étude du lait stérilisé. — *Le Lait*, 1928.
52. PORCHER (Ch.). — Le lait au point de vue colloïdal. — *Bull. Soc. de Chimie biol.*, 1926, VIII, n° 9.
53. RINGER (Sidney). — *J. Physiology*, 1890, II, 464.
54. RUPP (P.). — Transformations chimiques produites dans le lait de vache par la pasteurisation. — *U. S. Dept. Agric. Bureau Animal Industry*, 1913, n° 166, p. 15.

55. SCHABAD. — Les échanges phospho-calciques dans le rachitisme. — *Arch. für Kinderh.*, 1910, XIX, 435.
56. SCHLOSS. — Le métabolisme du phosphore. — *Deutsche Med. Woch.*, n° 39, p. 1505; *Arch. für Kinderh.*, n° 63, p. 259.
57. SCHRYVER (S. B.). — Les effets de la pasteurisation sur la composition chimique du lait par le chauffage à diverses températures. — *The dairyman*, décembre 1923, XLVI. (Référence donnée par la revue *Le Lait*.)
58. SGILL (E. M.). — Le lait pasteurisé et le lait écrémé causes de rachitisme et de déformation. — *Medical Record*, 1902, LII, 1016.
59. SHIPLEY, MC COLLUM, PARK et N. SIMMONDS. — Détermination du rachitisme par un régime pauvre en phosphore et en vitamine A. — *Journ. of Biol. Chemistry*, 1912, XLVII, 507.
60. SHIPLEY, PARK et N. SIMMONDS. — Etude sur le rachitisme expérimental. III. Ressemblance fondamentale du rachitisme humain avec celui provoqué par les régimes pauvres en phosphore. — *John's Hopskings Hosp. Bull.*, 1921, XXXII, 160.
61. SHERMANN et PAPPENHEIMER. — Sur la détermination du rachitisme par certains régimes et sur sa prévention par un sel inorganique. — *Journ. of experiment. médecine*, 1921, XXXIV, 189.
62. VAN SLYKE et BOSWORTH. — La caséine et les sels du lait. — *Journ. Biol. Chemist.*, 1914, XX, 135.
63. H. STASSANO et A.-C. DE BEAUFORT. — Le principe lytique transmissible (bacteriophage d'Hérelle) soumis au critérium de l'ultrafiltration moléculaire. *C. R. de la Société de Biologie*, Strasbourg, novembre 1925.
64. TELFER. — Etudes sur le métabolisme du calcium et

- du phosphore. L'excrétion phospho-calcique. — *Quart. Journ. medic.*, 1922-23, XVI, 45.
65. TELFER et CHICHTON. — *British Journ. experim. Pathology*, 1924, V, 84.
66. USUELLI. — L'alimentation stérilisée. Alimentation par le lait stérilisé. — *Biochemica e Terap. Sperim.*, 1926, XIII, 109.
67. A. C. VILLARD et K. BLUNT. — Comparaison du lait évaporé et du lait pasteurisé comme source de calcium, de phosphore et d'azote. — *Journ. of Biol. Chemistry*, 1927, LXXV, 251.
68. WHA CHIENCHI. — Communication sur la teneur du lait en calcium et en phosphore. — *Biochemische Zeitschrift*, 1924, CXLII, n° 1.
-

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	13
HISTORIQUE	16
Physico-Chimie	16
Essais physiologiques des laits chauffés....	21
Troubles dus à la carence en sels minéraux.	24
LE LAIT	28
L'ULTRAFILTRATION	33
MÉTHODES DE DOSAGES.....	39
Dosage du calcium.....	39
Dosage du phosphore.....	39
Dosage du chlore.....	40
Dosage de l'azote.....	40
CONDITIONS D'EXPÉRIMENTATION	42
RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX	45
pH	45
Chlore	48
Calcium	48
Phosphore	53
Azote	55
INTERPRÉTATION	57
CONCLUSIONS	60
BIBLIOGRAPHIE	61

Imprimerie spéciale de la Librairie LE FRANÇOIS
91, boulevard Saint-Germain, Paris
